

PN - FR2829287 A 20030307

PD - 2003-03-07

PR - FR20010011414 20010904

OPD- 2001-09-04

TI - Tandem mass spectrometry involves positioning dissociation system after ion source and before magnetic sector and using multichannel ion **detector** for simultaneously **detecting** ions reaching its **detection** surface at different positions

AB - Tandem mass spectrometry involves positioning a dissociation system (2) immediately after an ion source (1) and before a magnetic sector (4), and using a multichannel ion **detector** (7) capable of simultaneously **detecting** ions reaching its **detection** surface at different positions. Tandem mass spectrometry involves positioning a dissociation system (2) immediately after an ion source (1) and before a magnetic sector (4), and using a multichannel ion **detector** (7) capable of simultaneously **detecting** ions reaching its **detection** surface at different positions. The process uses a device with a vacuum chamber containing in the order of the ion trajectory, an ion source (1), a dissociation system (2), a fine **slit** (3), a magnetic sector (4), a fine **slit** (5), an electrostatic analyzer (6) and a multichannel ion **detector** (7).

IN - SCIGOCKI DAVID

PA - SCIGOCKI DAVID (FR)

EC - H01J49/32C

IC - H01J49/32 ; G01N27/62

CT - US4472631 A [X]

TI - Tandem mass spectrometry involves positioning dissociation system after ion source and before magnetic sector and using multichannel ion **detector** for simultaneously **detecting** ions reaching its **detection** surface at different positions

PR - FR20010011414 20010904

PN - FR2829287 A1 20030307 DW200352 H01J49/32 024pp

PA - (SCIG-I) SCIGOCKI D

IC - G01N27/62 ;H01J49/32

IN - SCIGOCKI D

AB - FR2829287 NOVELTY - Tandem mass spectrometry involves positioning a dissociation system (2) immediately after an ion source (1) and before a magnetic sector (4), and using a multichannel ion **detector** (7) capable of simultaneously **detecting** ions reaching its **detection** surface at different positions.

- DETAILED DESCRIPTION - Tandem mass spectrometry involves positioning a dissociation system (2) immediately after an ion source (1) and before a magnetic sector (4), and using a multichannel ion **detector** (7) capable of simultaneously **detecting** ions reaching its **detection** surface at different positions.

The process uses a device with a vacuum chamber containing in the order of the ion trajectory, an ion source (1), a dissociation system (2), a fine **slit** (3), a magnetic sector (4), a fine **slit** (5), an electrostatic analyzer (6) and a multichannel ion **detector** (7).

- USE - Used particularly in tandem with proteometry in biology to determine the functions of proteins

- ADVANTAGE - The process allows a single mass spectrometer to operate where normally two are used, by analyzing the primary ions and the fragments in tandem at the same energy.

- DESCRIPTION OF DRAWING(S) - The figure shows the mass spectrometer for carrying out the process.

- Ion source 1

- Dissociation system 2

- Fine **slit** 3

- Magnetic sector 4

- Fine **slit** 5

- Electrostatic analyzer 6

This Page Blank (uspto)

- Multichannel ion **detector** 7
- (Dwg.1/4)
OPD- 2001-09-04
AN - 2003-544008 [52]

This Page Blank (uspto)

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

(11) N° de publication :
(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)

2 829 287

(21) N° d'enregistrement national :

01 11414

(51) Int Cl⁷ : H 01 J 49/32, G 01 N 27/62

(12)

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 04.09.01.

(71) Demandeur(s) : SCIGOOCKI DAVID — FR.

(30) Priorité :

(43) Date de mise à la disposition du public de la demande : 07.03.03 Bulletin 03/10.

(72) Inventeur(s) : SCIGOOCKI DAVID.

(56) Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : Se reporter à la fin du présent fascicule

(73) Titulaire(s) :

(60) Références à d'autres documents nationaux apparentés :

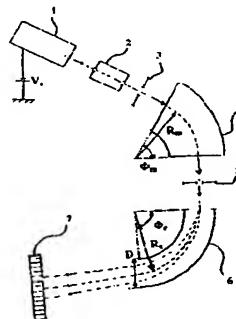
(74) Mandataire(s) :

(54) PROCÉDÉ DE SPECTROMÉTRIE DE MASSE EN TANDEM PRODUISANT SIMULTANÉMENT LE SPECTRE DE MASSE PRIMAIRE ET LES SPECTRES DE DISSOCIATION DE PLUSIEURS MOLECULES DIFFÉRENTES SANS SELECTION DE MASSE PRIMAIRE.

(57) Procédé de spectrométrie de masse en tandem produisant simultanément le spectre de masse primaire et les spectres de dissociations de plusieurs molécules différentes sans sélection de masse primaire.

Les dispositifs de spectrométrie de masse en tandem standards ne peuvent produire qu'un seul spectre de dissociation à la fois à cause de la sélection de masse primaire qui est effectuée par ces dispositifs avant la fragmentation des ions primaires. L'invention concerne un procédé de spectrométrie de masse en tandem réalisé à l'aide d'un dispositif comportant, dans une enceinte sous vide et dans cet ordre sur la trajectoire des ions: une source d'ions (1); un système de dissociation (2), une fente fine F₁ (3), un secteur magnétique (4), une fente fine F₂ (5), un analyseur électrostatique (6), un détecteur d'ions multicanal (7). La position du système de dissociation (2) situé immédiatement après la source d'ions (1) et avant le secteur magnétique (4), et l'utilisation d'un détecteur d'ions (7) à plusieurs canaux capable de détecter en même temps des ions atteignant sa surface de détection à différentes positions, permet de mesurer simultanément le rapport masse sur charge et énergie sur charge de différents ions primaires et de différents frag-

ments. Ce qui permet de produire simultanément, sans sélection de masse, primaire à la fois le spectre primaire et le spectre de dissociation des différentes molécules présentes dans l'échantillon analysé par le dispositif. Le procédé est particulièrement destiné aux applications de la spectrométrie de masse à la protéomique en biologie.



FR 2 829 287 - A1



L'invention concerne un procédé de spectrométrie de masse en tandem permettant la détermination de la masse et de la structure de plusieurs molécules différentes dans un échantillon complexe, en produisant simultanément, sans sélection de masse des ions primaires, à la fois leur spectre de masse primaire et le spectre de dissociation de chacune de ces molécules primaires, avec 5 une résolution en masse indépendante de la dispersion énergétique des ions primaires et de celle de leurs fragments.

L'identification de molécules de différentes masses moléculaires dans un échantillon complexe, ou la détermination précise de la structure de molécules inconnues par spectrométrie de masse, nécessite généralement l'utilisation de deux spectromètres de masse fonctionnant en tandem. 10 Le premier spectromètre de masse produit le spectre primaire qui permet de mesurer précisément la masse des différentes molécules présentes dans l'échantillon à analyser, qui sont auparavant ionisées puis accélérées dans une source d'ions. Pour obtenir une information structurelle sur chacune de ces molécules, après avoir sélectionné la fenêtre de masse correspondant à la molécule à étudier avec le premier spectromètre de masse, on utilise un système de dissociation, par exemple une boîte de 15 collision contenant du gaz, pour fragmenter ces molécules entre le premier et le deuxième spectromètre de masse. On analyse ces fragments avec le deuxième spectromètre de masse, qui va produire un spectre de masse de dissociation caractéristique de la molécule primaire sélectionnée par le premier spectromètre de masse. Aucun système de spectrométrie de masse en tandem standard avec sélection de masse et dissociation entre le premier et le second spectromètre de masse, ne 20 permet d'obtenir simultanément plusieurs spectres de dissociations secondaires provenant de la fragmentation de molécules de différentes masses primaires. Ces dispositifs de spectrométrie de masse en tandem ne peuvent produire qu'un seul spectre de dissociation à la fois, quel que soit le type de spectromètre de masse utilisé.

La dispersion énergétique provenant de la formation des ions primaires produits dans la 25 source, et la dispersion énergie supplémentaire provenant du processus de fragmentation, dégradent généralement la résolution des pics de masse des spectres de dissociation produits par la plupart des dispositifs de spectrométrie de masse en tandem standards.

Le procédé selon l'invention permet de résoudre ces inconvénients de la spectrométrie de masse en tandem, en produisant simultanément, sans sélection de masse des ions primaires, le 30 spectre de masse primaire et chaque spectre de dissociation des différentes molécules présentes dans un échantillon analysé avec une résolution indépendante de la dispersion énergétique de ces molécules ionisées, et de celle des fragments produits par leurs dissociations.

Des dessins annexés permettront d'illustrer la description:

La figure 1 montre un dispositif de spectrométrie de masse permettant de réaliser le procédé 35 selon l'invention.

La figure 2 montre un autre dispositif constitué des mêmes éléments que celui de la figure 1, mais avec une configuration différente, permettant de réaliser le procédé selon l'invention.

La figure 3 montre un exemple de juxtaposition de l'ensemble des spectres de masse obtenus avec le procédé selon l'invention.

5 La figure 4 montre un exemple de ligne isomasse extrait de la figure 3, constitué du pic primaire et des différents pics de dissociation d'ions de même rapport masse sur charge (M_4/q_4).

Le procédé selon l'invention est réalisé avec le dispositif de spectrométrie de masse de la figure 1. Ce dispositif, placé dans une enceinte à vide, est constitué pour l'essentiel et dans cet ordre sur la trajectoire des ions: d'une source d'ions (1), d'un système de dissociation (2), d'une fente fine F₁ (3), d'un secteur magnétique (4), d'une fente fine F₂ (5), d'un analyseur électrostatique (6), et d'un détecteur d'ions multicanal (7). Ce dispositif est caractérisé à la fois par la position du système de dissociation (2), situé immédiatement après la source d'ions (1) et avant le secteur magnétique (4), et par l'utilisation d'un détecteur d'ions (7) à plusieurs canaux capable de détecter simultanément des ions atteignant sa surface de détection à des positions différentes. Ce qui permet de mesurer en 10 même temps le rapport masse sur charge et le rapport énergie sur charge de différents ions primaires et de différents fragments, en produisant simultanément le spectre de masse primaire et chaque 15 spectre de dissociation des différentes molécules analysées par le dispositif.

Le fonctionnement des différents éléments constituant le dispositif est le suivant:

La source d'ions (1) ionise les molécules de l'échantillon à analysé par le dispositif, et extrait 20 les ions produits avec une tension d'accélération.

Le système de dissociation (2) fragmente une partie des ions primaires extraits de la source d'ions (1) pour produire les spectres de dissociation de ces ions primaires.

Un secteur magnétique est un dispositif de séparation des ions en fonction de la masse, de la charge et de l'énergie de ces ions, caractérisé par son rayon R_m et son angle ϕ_m . Il consiste en un 25 champ magnétique homogène produit généralement par des électroaimants, perpendiculaire au rayon R_m, et limité par deux surfaces planes se coupant suivant une parallèle aux lignes de forces. Un secteur magnétique corrige la divergence du faisceau d'ions par ses propriétés de lentille.

Un analyseur électrostatique est constitué de deux plaques parallèles séparées d'une distance D portées à des tensions égales V_e, et de signes opposés (pour des ions ionisés positivement la 30 plaque extérieure au rayon de courbure est chargée positivement et la plaque intérieure négativement), de manière à créer un champ électrostatique radial sensiblement constant dirigé vers le centre de courbure. Un analyseur électrostatique disperse les ions en fonction de leurs valeurs de rapport énergie sur charge, et possède des propriétés de focalisation directionnelle pour des ions de même énergie qui permet de corriger la dispersion angulaire des ions mononénergétiques. Un

analyseur électrostatique est caractérisé par sa forme qui peut être cylindrique ou sphérique, son rayon R_e et son angle ϕ_e .

Le détecteur d'ions (7) possède plusieurs canaux lui permettant de détecter simultanément des ions atteignant sa surface de détection à différentes positions.

5 Le procédé selon l'invention sera réalisé en effectuant les opérations suivantes:

Après l'introduction de l'échantillon à analyser, on applique une tension d'accélération V_0 à la source d'ions (1) pour extraire les molécules primaires qui ont été ionisées. Le rapport de l'énergie moyenne sur la charge des ions primaires de masse M de charge q(M) est $[E_0(M)/q(M)] = V_0$, quelles que soient les valeurs de M et de q(M). La dispersion énergétique relative due à la formation des 10 ions primaires dans la source d'ions (1) est alors $[\Delta E_0(M)/E_0(M)] = (\Delta V_0/V_0)$. L'ensemble des ions de masse M et de charge q(M) d'énergies comprises entre $[E_0(M) - \Delta E_0(M)]$ et $[E_0(M) + \Delta E_0(M)]$, forme le pic de masse primaire de ces molécules ionisées. L'ensemble des pics primaires dont chaque pic correspond à une valeur différente du rapport masse sur charge, constitue le spectre primaire des molécules analysées par le dispositif.

15 Une partie des ions primaires extraits de la source d'ions (1) est ensuite fragmentée dans le système de dissociation (2), sans modifier la vitesse des fragments produits. Les fragments conservent donc en moyenne la vitesse des ions primaires dont ils sont issus. Le rapport de l'énergie moyenne sur la charge des fragments de masse m et de charge q(m), provenant de la dissociation des ions de masse primaire M et de charge q(M) est alors déterminée par l'équation:

20

$$[1] [E_0(m)/q(m)] = [E_0(M) m/M q(m)] = [q(M) V_0 m/M q(m)].$$

La dispersion énergétique relative de ces fragments $[\Delta E_0(m)/E_0(m)]$, est généralement supérieure à $(\Delta V_0/V_0)$, à cause du processus de fragmentation. L'ensemble des fragments de masse m et de charge 25 q(m) d'énergies comprise entre $[E_0(m) - \Delta E_0(m)]$ et $[E_0(m) + \Delta E_0(m)]$, forme le pic de dissociation de ces fragments. L'ensemble des pics de dissociation dont le rapport masse sur charge et le rapport de l'énergie moyenne sur la charge vérifient l'équation [1] correspondant à la valeur du rapport masse sur charge $[M/q(M)]$ des ions primaires, forment le spectre de dissociation de ces ions primaires.

30 On fait varier la valeur de l'induction magnétique B de 0 à B_{max} , où B_{max} est l'induction magnétique maximale que peut atteindre le secteur magnétique (4) utilisé, de manière à filtrer tous les ions primaires extraits de la source d'ions et tous les fragments produits par le système de dissociation (2) détectables par le dispositif utilisé. A chaque valeur de l'induction magnétique B sélectionnée, différents ions primaires extraits de la source d'ions (1), et différents fragments 35 produits par le système de dissociation (2), sont filtrés par le secteur magnétique (4) en traversant

successivement les fentes F_1 (3) et F_2 (5), avec une trajectoire de rayon R_m , si les valeurs de leurs masses m , de leurs énergies E et de leurs charges q vérifient l'équation:

$$[2] B^2 = [2 m E/q^2 R_m^2].$$

5

Les différents ions filtrés par le secteur magnétique (4) à la valeur B de l'induction magnétique sélectionnée, sont déviés dans l'analyseur électrostatique (6) suivant des trajectoires dont les rayons r_e dépendent de la valeur du rapport énergie sur charge (E/q) de chaque ion, de la tension appliquée V_e sur les plaques de l'analyseur électrostatique (6), et de la distance D qui sépare ces deux plaques.

- 10 La valeur du rapport énergie sur charge (E/q) de chaque ion est déterminée par l'équation:

$$[3] (E/q) = [r_e V_e / 2 D],$$

Il n'y a pas de fente entre le détecteur d'ions multicanal (7) et l'analyseur électrostatique (6)

15 pour filtrer les trajectoires des ions dispersés par l'analyseur électrostatique (6). Le détecteur d'ions (7) peut mesurer simultanément les rayons des trajectoires dans l'analyseur électrostatique (6) correspondant à des ions de rapports énergie sur charge (E/q) différents. Les ions filtrés par le secteur magnétique (4) à la valeur de l'induction magnétique sélectionnée, puis déviés dans l'analyseur électrostatique (6) sont finalement refocalisés sur le détecteur d'ions multicanal (7) à des

20 positions correspondant aux rayons de leurs trajectoires dans l'analyseur électrostatique (6), où ils produisent un spectre de masse. Les caractéristiques instrumentales de l'analyseur électrostatique (6) et du détecteur d'ions (7) utilisés, déterminent les rayons des trajectoires minimales et maximales mesurables simultanément sur le détecteur d'ions (7) en fonction de la valeur de la tension V_e appliquée sur l'analyseur électrostatique (6).

25 Si la valeur de la tension V_e appliquée sur l'analyseur électrostatique (6), ne permet pas de mesurer simultanément tous les rayons des trajectoires correspondant aux valeurs du rapport énergie sur charge (E/q) des ions filtrés par le secteur magnétique (4) à la même valeur de B , avec l'analyseur électrostatique (6) et le détecteur d'ions (7) utilisés, on varie séquentiellement la valeur de V_e pour atteindre toutes les valeurs possibles du rapport (E/q). A chaque nouvelle valeur de V_e ,

30 on conserve la même valeur de l'induction magnétique B , et on produit le nouveau spectre de masse correspondant aux rayons des trajectoires des ions avec la nouvelle bande de valeurs du rapport énergie sur charge (E/q) sélectionnée par l'analyseur électrostatique (6) à cette valeur de V_e .

35 On détermine les valeurs des différents rapports de masse sur charge (m/q) des ions filtrés par le secteur magnétique (4) en utilisant la valeur de l'induction magnétique B sélectionnée et les valeurs des rayons r_e mesurés par le dispositif, avec l'équation suivante obtenue à partir des équations [2] et [3]:

$$[4] \frac{(m/q)}{=} [D R_m^2 B^2 / V_e r_e].$$

On juxtapose l'ensemble des spectres de masse obtenu pour les valeurs de l'induction magnétique variant de 0 à B_{max} , en formant ainsi tous les pics de masse primaire et tous les pics de dissociation des différentes molécules détectables par le dispositif utilisé, dont on a déterminé précédemment les différentes valeurs de rapport masse sur charge avec l'équation [4].

Un exemple de juxtaposition de l'ensemble des spectres de masse obtenu par le procédé selon l'invention avec le dispositif de la figure 1, pour un échantillon contenant des ions primaires avec quatre valeurs de rapport masse sur charge primaire (M_1/q_1) , (M_2/q_2) , (M_3/q_3) , (M_4/q_4) , et leurs différents fragments, est montré sur la figure 3. L'ensemble des spectres de masse est représenté dans le plan $\{(m/q), (E/q)\}$ après conversion à partir des équations [3] et [4] des spectres de masse obtenus pour chaque valeur de B . Les valeurs des rapports charge sur énergie (E/q) des ions sont représentées en abscisse (axe X), et les valeurs des rapports masse sur charge (m/q) correspondants sont représentées en ordonnée (axe Y). Les ions détectés, primaires ou fragments, vont se positionner dans le plan $\{(m/q), (E/q)\}$ en fonction de leurs valeurs de rapport énergie sur charge et masse sur charge, sur des lignes isomasses traçant des droites parallèles à l'axe X. Les quatre droites isomasses correspondant au rapport masse sur charge des molécules primaires sont représentées en pointillés sur la figure 3. Le nombre d'événements est représenté dans la direction perpendiculaire (axe Z) au plan $\{(m/q), (E/q)\}$. La distribution du nombre d'événements des ions de chaque pic de masse primaire et de chaque pic de dissociation, est représentée par un trait plein sur la figure 3, et la position du nombre d'événements maximum de chaque pic primaire et de chaque pic de dissociation, est représentée par un point sur ce trait plein.

La distribution du nombre d'événements de chaque pic de masse primaire et de chaque pic de dissociation, est déterminée par la dispersion énergétique provenant de la formation des ions primaires dans la source d'ions (1), et de la dispersion énergétique supplémentaire produite par la dissociation pour les fragments. Le nombre d'événements maximum dans chaque pic primaire et de dissociation est obtenu pour les ions de valeur de rapport énergie sur charge égale à l'énergie moyenne sur la charge. On détermine pour chaque pic de masse primaire et pour chaque pic de dissociation la position du maximum du nombre d'événements, et la valeur du rapport de l'énergie moyenne sur la charge de chaque pic primaire et de dissociation correspondante avec l'équation [3].

La valeur du rapport de l'énergie moyenne sur la charge des ions primaires de rapport masse sur charge $[M/q(M)]$ est $[E_0(M)/q(M)] = V_0$ quelles que soient les valeurs de M et $q(M)$. Les pics de masse primaires sont ceux dont la position du nombre d'événements maximum correspond à la valeur du rapport l'énergie moyenne sur la charge égale à V_0 . On identifie ainsi tous les pics de

masse primaire, et on détermine le spectre de masse primaire des molécules présentes dans l'échantillon analysé par le dispositif.

D'après l'équation [1], les valeurs du rapport de l'énergie moyenne sur la charge des pics de dissociation sont toujours inférieures à celles des pics primaires. On détermine avec l'équation [1] de quelles molécules primaires sont issus les fragments de chaque pic de dissociation, en utilisant la valeur du rapport masse sur charge $[M/q(M)]$ de ces molécules primaires, la valeur du rapport $[m/q(m)]$ et la valeur du rapport de l'énergie moyenne sur la charge $[E_0(m)/q(m)]$ de ce pic de dissociation, qui ont été déterminées précédemment. On identifie ainsi tous les pics de dissociation, et on détermine le spectre de dissociation correspondant à chaque valeur de rapport masse sur charge des différentes molécules primaires présentes dans l'échantillon analysé par le dispositif.

Sur l'exemple de la figure 3, la position du nombre d'événements maximum de chaque pic de dissociation du spectre de dissociation de chaque rapport masse sur charge primaire, est située sur une droite passant par l'origine des axes et par la position du nombre d'événements maximum du pic de masse primaire correspondant à cette valeur de rapport masse sur charge primaire. Les 4 droites correspondant aux 4 spectres de dissociation des molécules de différents rapports masse sur charge primaires sont représentés en pointillés sur la figure 3.

La figure 4 montre un exemple d'un pic primaire situé à $X = V_0$ et de trois pics de dissociation d'ions de même rapport masse sur charge correspondant à projection sur le plan (X, Z) de la droite isomasse de rapport masse sur charge égal à (M_4/q_4) , extraite de la figure 3. Les valeurs du rapports charge sur énergie (E/q) des ions sont représentées en abscisse, et le nombre d'événements correspondant est représenté en ordonnée. La distribution du nombre d'événements dans chacun des quatre pics de masse représentés sur la figure 3 correspond à la distribution énergétique des ions primaires et des fragments à l'origine de ces pics. La position du canal correspondant au maximum du nombre d'événements du pic primaire et de chaque pic de dissociation est représentée en pointillés sur la figure 4.

La résolution en masse du dispositif de la figure 1 utilisant le procédé selon l'invention est déterminée par la capacité du système constitué de l'analyseur électrostatique (6) et du détecteur d'ions multicanal (7), à séparer des ions de valeurs de rapport masse sur charge et de rapport énergie sur charge proches mais différentes, qui sont filtrés par le secteur magnétique (4) à chaque valeur de l'induction magnétique sélectionnée. Dans ce cas la résolution du dispositif est :

$$[5] (\Delta m/m)_1 = [(\delta m/m)_1 + (\delta E/E)_1],$$

où $(\delta m/m)_1$ est la résolution en masse pour des ions monoénergétiques du système constitué par les fentes F_1 (3) et F_2 (5), et le secteur magnétique (4), et $(\delta E/E)_1$ est la résolution en énergie du système constitué par la fente F_2 (5), l'analyseur électrostatique (6), et le détecteur d'ions multicanal (7).

Dans le cas particulier d'un montage symétrique où les fentes F_1 (3) et F_2 (5) de largeur f_1 et f_2 sont positionnées à la même distance des faces d'entrée et de sortie du secteur magnétique (4), et où la fente F_2 (5) et le détecteur d'ions (7) sont positionnés à égale distance des faces d'entrée et de sortie de l'analyseur électrostatique (6), la résolution en masse du dispositif utilisant le procédé selon 5 l'invention est:

$$[6] (\Delta m/m)_1 = [((f_1 + f_2)/2 R_m) + \alpha^2 + ((f_2 + f)/2 R_e)], \text{ (largeur à mi hauteur).}$$

où f est la largeur des canaux du détecteur d'ions et α est la dispersion angulaire du faisceau d'ions.

10 Dans tous les cas, la résolution en masse $(\Delta m/m)_1$ du dispositif de la figure 1 utilisant le procédé selon l'invention est identique pour les ions primaires et les fragments, et est totalement indépendante de la dispersion énergétique due à la formation des ions dans la source d'ions (1), et de celle provenant de la fragmentation des ions primaires dans le système de dissociation (2). Elle ne dépend que des caractéristiques instrumentales des différents éléments composant le dispositif et de 15 la dispersion angulaire du faisceau d'ions. Dans la limite de la résolution en masse $(\Delta m/m)_1$ du dispositif utilisant le procédé selon l'invention, les ions primaires de différentes valeurs de rapport masse sur charge sont séparés quelles que soient les valeurs de leurs rapports énergie sur charge. De même, les fragments des différents pics de dissociation du même spectre de dissociation des ions primaires de chaque valeur de rapport masse sur charge, sont également séparés quelles que soient 20 les valeurs de leurs rapport énergie sur charge.

Pour l'exemple de la figure 3, la résolution $(\Delta m/m)_1$ est inférieure ou égale à la largeur des traits pleins représentant la distribution des ions sur chaque pic de masse primaire et de dissociation sur les droites isomasses.

Le procédé selon l'invention est réalisé également avec le dispositif montré sur la figure 2. 25 Ce dispositif est composé des mêmes éléments que celui de la figure 1, mais avec une configuration différente. Ce dispositif, placé dans une enceinte à vide, est constitué pour l'essentiel et dans cet ordre sur la trajectoire des ions: d'une source d'ions (1), d'un système de dissociation (2), d'une fente fine F_1 (3), d'un analyseur électrostatique (6), d'une fente fine F_2 (5), d'un secteur magnétique (4), et d'un détecteur d'ions multicanal (7). La seule différence dans la configuration du dispositif de la 30 figure 2 par rapport à celle de la figure 1, est l'inversion de la position du secteur magnétique (4) et de l'analyseur électrostatique (6). Ce dispositif est caractérisé à la fois par la position du système de dissociation (2) situé immédiatement après la source d'ions (1), et avant l'analyseur électrostatique (6), et par l'utilisation d'un détecteur d'ions (7) à plusieurs canaux capable de détecter simultanément des ions atteignant sa surface de détection à des positions différentes. Ce qui permet de mesurer en 35 même temps le rapport masse sur charge et le rapport énergie sur charge de différents ions primaires

et de différents fragments, en produisant simultanément le spectre de masse primaire et le spectre de dissociation des différentes molécules analysées par le dispositif.

Le procédé selon l'invention est réalisé en effectuant les opérations suivantes:

- Après l'introduction de l'échantillon à analyser, on applique la tension d'accélération V_0 à la source d'ions (1) pour extraire les molécules primaires qui ont été ionisées. Une partie de ces ions primaires extraits de la source d'ions (1) est ensuite fragmentée dans le système de dissociation (2), sans modifier la vitesse des fragments produits. Les fragments conservent donc en moyenne la vitesse des ions primaires dont ils sont issus. Le rapport de l'énergie moyenne sur la charge des fragments de masse m et de charge $q(m)$, provenant de la dissociation des ions de masse primaire M et de charge $q(M)$ est alors déterminé par l'équation [1].

On fait varier la valeur de la tension v_e appliquée sur l'analyseur électrostatique (6) de 0 à $(v_e)_{max}$, où $(v_e)_{max}$ est la tension maximale appliquée sur l'analyseur électrostatique, pour filtrer tous les ions primaires extraits de la source d'ions et tous les fragments produits par le système de dissociation (2). A chaque valeur de la tension v_e appliquée sur les plaques de l'analyseur électrostatique (6), séparées de la distance D , différents ions primaires extraits de la source d'ions (1), et différents fragments produits par le système de dissociation (2), sont filtrés par l'analyseur électrostatique (6) en traversant successivement les fentes F_1 (3) et F_2 (5), avec une trajectoire de rayon R_e , si la valeur du rapport énergie sur charge (E/q) de ces ions vérifient l'équation:

[7] $(E/q) = [v_e R_e / 2 D]$.

Les différents ions de même valeur du rapport énergie sur charge (E/q), filtrés par l'analyseur électrostatique (6) à chaque valeur de la tension v_e sélectionnée, sont déviés dans le secteur magnétique (4) suivant des trajectoires dont les différents rayons r_m qui dépendent de la valeur du rapport énergie sur charge (E/q) sélectionnée, de la valeur de l'induction magnétique fixé à B_m , et de leurs différentes valeurs de rapport masse sur charge (m/q). Les valeurs des rayons r_m des trajectoires des ions dans le secteur magnétique (4) sont déterminés par l'équation:

$$[8] r_m^2 = [2 m E/q^2 B_m^2].$$

Il n'y a pas de fente entre le détecteur d'ions multicanal (7) et le secteur magnétique (4) pour filtrer les trajectoires des ions dispersés par le secteur magnétique (4). Le détecteur d'ions (7) peut donc mesurer simultanément les rayons des différentes trajectoires dans le secteur magnétique (4) correspondant à des ions filtrés par l'analyseur électrostatique (6) de même rapport énergie sur charge, mais de rapports masse sur charge différents. Les ions filtrés par l'analyseur électrostatique (6) à la valeur de la tension v_e sélectionnée, puis déviés dans le secteur magnétique (4) sont

finalement refocalisés sur le détecteur d'ions multicanal (7) à des positions correspondant aux rayons r_m de leurs trajectoires dans le secteur magnétique (4), où ils produisent un spectre de masse. Les caractéristiques instrumentales du secteur magnétique (4) et du détecteur d'ions (7) utilisés, vont déterminer les trajectoires minimales et maximales détectables simultanément sur le détecteur d'ions (7) en fonction de la valeur de l'induction magnétique B_m appliquée sur le secteur magnétique (4).

On détermine les valeurs des différents rapports de masse sur charge (m/q) des ions filtrés par l'analyseur électrostatique (6), en utilisant la valeur de la tension v_e sélectionnée et les valeurs des différents rayon r_m mesurées par le dispositif, avec l'équation suivante obtenue à partir des équations [7] et [8]:

10

$$[9] (m/q) = [D B_m^2 r_m^2 / v_e R_e].$$

Si la valeur de l'induction magnétique B_m appliquée sur le secteur magnétique (4), ne permet pas de mesurer simultanément tous les rayons des trajectoires correspondant aux valeurs de rapport masse sur charge des ions primaires et des fragments filtrés par l'analyseur électrostatique (6), pour les valeurs de la tension v_e comprises entre 0 et $(v_e)_{max}$, avec le secteur magnétique (4) et le détecteur d'ions (7) utilisés, on varie séquentiellement la valeur de l'induction magnétique B_m pour atteindre toutes les valeurs possibles du rapport masse sur charge de ces ions. A chaque nouvelle valeur de B_m , on varie à nouveau la valeur de la tension v_e de 0 à $(v_e)_{max}$, en produisant un spectre de masse à chaque valeur de la tension v_e sélectionnée. On peut varier séquentiellement la valeur de B_m entre 0 et la valeur maximale de l'induction magnétique B_{max} que peut atteindre le secteur magnétique (4).

On juxtapose l'ensemble des spectres de masse obtenu pour les valeurs de la tension v_e variant de 0 à $(v_e)_{max}$, en formant ainsi tous les pics de masse primaire et tous les pics de dissociation des différentes molécules détectables par le dispositif utilisé, dont on a déterminé précédemment les différentes valeurs de rapport masse sur charge avec l'équation [9].

La distribution du nombre d'événements de chaque pic de masse primaire et de chaque pic de dissociation, est déterminée par la dispersion énergétique provenant de la formation des ions primaires dans la source d'ions (1), et de la dispersion énergétique supplémentaire produite par la dissociation pour les fragments. Le nombre d'événements maximum dans chaque pic primaire et de dissociation est obtenu pour les ions de valeur de rapport énergie sur charge égale à l'énergie moyenne sur la charge. On détermine pour chaque pic de masse primaire et pour chaque pic de dissociation la position du maximum du nombre d'événements, et la valeur du rapport de l'énergie moyenne sur la charge de chaque pic primaire et de dissociation correspondante avec l'équation [7].

La valeur du rapport de l'énergie moyenne sur la charge des ions primaires de rapport masse sur charge $[M/q(M)]$ est $[E_0(M)/q(M)] = V_0$ quelles que soient les valeurs de M et $q(M)$. Les pics de

masses primaires sont ceux dont la position du nombre d'événements maximum correspond à la valeur du rapport l'énergie moyenne sur la charge égale à V_0 . On identifie ainsi tous les pics de masse primaire, et on détermine le spectre de masse primaire des molécules présentes dans l'échantillon analysé par le dispositif.

5 D'après l'équation [1], les valeurs du rapport de l'énergie moyenne sur la charge des pics de dissociation sont toujours inférieures à celles des pics primaires. On détermine avec l'équation [1] de quelles molécules primaires sont issus les fragments de chaque pic de dissociation, en utilisant la valeur du rapport masse sur charge $[M/q(M)]$ de ces molécules primaires, la valeur du rapport $[m/q(m)]$ et la valeur du rapport de l'énergie moyenne sur la charge $[E_0(m)/q(m)]$ de ce pic de dissociation, qui ont été déterminées précédemment. On identifie ainsi tous les pics de dissociation, et on détermine le spectre de dissociation correspondant à chaque valeur de rapport masse sur charge des différentes molécules primaires présentes dans l'échantillon analysé par le dispositif.

10 La résolution en masse du dispositif de la figure 2 utilisant le procédé selon l'invention est déterminée par la capacité du système constitué du secteur magnétique (4) et du détecteur d'ions multicanal (7), à séparer des ions de valeurs de rapport masse sur charge et de rapport énergie sur charge proches mais différentes, qui sont filtrés par l'analyseur électrostatique (6) à chaque valeur de la tension v_e sélectionnée. Dans ce cas la résolution du dispositif est :

$$[10] (\Delta m/m)_2 = [(\delta E/E)_2 + (\delta m/m)_2],$$

15 où $(\delta E/E)_2$ est la largeur relative de la bande énergétique sélectionnée par le système constitué de l'analyseur électrostatique (6) et des fentes F_1 (3) et F_2 (5), et $(\delta m/m)_2$ est la résolution en masse pour des ions monoénergétiques du système constitué par la fente F_2 (5), le secteur magnétique (4) et le détecteur d'ions multicanal (7).

20 Dans le cas particulier d'un montage symétrique où les fentes F_1 (3) et F_2 (5) de largeur f_1 et f_2 sont positionnées à la même distance des faces d'entrée et de sortie de l'analyseur électrostatique (6), et où la fente F_2 (5) et le détecteur d'ions (7) sont positionnés à égale distance des faces d'entrée et de sortie du secteur magnétique (4), la résolution en masse du dispositif utilisant le procédé selon l'invention est:

$$30 [11] (\Delta m/m)_2 = [((f_1 + f_2)/2 R_e) + ((f_2 + f)/2 R_m) + \alpha^2], \text{ (largeur à mi hauteur).}$$

où f est la largeur des canaux du détecteur d'ions et α est la dispersion angulaire du faisceau d'ions.

35 Dans tous les cas, la résolution en masse $(\Delta m/m)_2$ du dispositif de la figure 2 utilisant le procédé selon l'invention est identique pour les ions primaires et les fragments, et est totalement indépendante de la dispersion énergétique due à la formation des ions dans la source d'ions (1), et de

celle provenant de la fragmentation des ions primaires dans le système de dissociation (2). Elle ne dépend que des caractéristiques instrumentales des différents éléments composant le dispositif et de la dispersion angulaire du faisceau d'ions. Dans la limite de la résolution en masse ($\Delta m/m$)₂ du dispositif utilisant le procédé selon l'invention, les ions primaires de différentes valeurs de rapport 5 masse sur charge sont séparés quelles que soient les valeurs de leurs rapports énergie sur charge. De même, les fragments de différentes valeurs de masse sur charge formant les pics de dissociation du même spectre de dissociation des ions primaires de chaque valeur de rapport masse sur charge, sont également séparés quelles que soient les valeurs de leurs rapport énergie sur charge.

Une variante du procédé selon l'invention consiste à modifier l'énergie des fragments 10 produits par le système de dissociation (2). Par exemple, on peut appliquer un potentiel V_c inférieur à V_0 sur une boîte de collision utilisée comme système de dissociation (2). Dans ce cas, l'équation [1] déterminant le rapport l'énergie moyenne sur la charge des fragments de masse m et de charge $q(m)$ provenant de la dissociation des ions primaires de masse M et de charge $q(M)$ à la sortie de la boîte de collision devient:

15

$$[12] [E_0(m)/q(m)] = \{[q(M)/q(m)] [(m/M)(V_0 - V_c) + V_c]\}.$$

Le procédé selon l'invention s'applique d'une manière identique si l'énergie des fragments est 20 changée car les autres équations ne sont pas modifiées. Seule la position des pics de masse dans les spectres de dissociation est déplacée avec la modification de l'énergie des fragments.

Le procédé selon l'invention est réalisé avec les dispositifs de la figure 1 et de la figure 2 équipés:

des sources d'ions suivantes: sources d'ions à ionisation par bombardement électronique, 25 sources d'ions à ionisation chimique, sources d'ions Electrospray à ionisation par électro nébulisation, sources à émissions secondaires après bombardement d'un faisceau d'ions primaires S.I.M.S. (Secondary Ion Mass Spectrometry), ou d'un faisceau de molécules neutres F.A.B. (Fast Atom Bombardment);

des systèmes de dissociation suivants: C.I.D. (Collision Induced Dissociation) à fragmentation par choc avec le gaz contenu dans une boîte de collision, S.I.D. (Surface Induced Dissociation) à fragmentation par collision sur une cible solide, à photo dissociation par laser, à fragmentation spontanée après extraction d'ions dans un état métastable excités dans la source 30 d'ions;

des analyseurs électrostatiques de forme cylindrique et sphérique;

des détecteurs d'ions suivants: caméras C.C.D. (Charged Coupled Device) intensifiées 35 constituées d'une galette de microcanaux (ou de plusieurs galettes superposées) dont les électrons extraits de la face de sortie sont accélérés et envoyés sur une fenêtre de fibres optiques recouverte

d'une couche de scintillateur, qui convertit ces électrons en photons qui sont ensuite détectés de l'autre côté de la fenêtre par une caméra à matrice, ou à ligne, C.C.D., galettes de microcanaux à lecture directe des électrons extraits de la face de sortie avec un plan d'anode constitué de bandes individuelles de conducteurs connectées chacune à une électronique d'amplification et d'acquisition.

5 A titre d'exemple non limitatif, un dispositif ayant la configuration de la figure 1 est constitué des éléments suivants:

Une source d'ions (1) du type Electrospray à ionisation par électro nébulisation , qui produit des ions multichargés avec une solution pulvérisée à partir d'une électrode-capillaire placée à haute tension. Les gouttelettes produites sont asséchées par un flux de gaz, et les ions restants sont 10 envoyés vers le spectromètre de masse à travers un capillaire.

Une boîte de collision à la masse contenant du gaz de 13 cm de longueur est utilisée comme système de dissociation (2), avec comme fente de sortie la fente F₁ (3). Les fentes d'entrée de la boîte de collision et les fentes F₁ (3) et F₂ (5) sont de largeur égale à 13 microns, et de longueur égale à 1,3 mm. La dispersion angulaire α des ions traversant la boîte de collision est donc de l'ordre 15 du milliradian.

Le secteur magnétique (4) est d'angle $\Phi_m = 60^\circ$ et de rayon R_m = 50 cm, et l'analyseur électrostatique (6) est cylindrique d'angle $\Phi_e = 90^\circ$ et de rayon R_e = 50 cm, avec une largeur D = 5 cm. Le montage du secteur magnétique (4) et l'analyseur électrostatique (6) est symétrique, c'est à dire avec des fentes F₁ (3) et F₂ (5) positionnées aux points focaux et à distances égales de la face d'entrée et de sortie du secteur magnétique (4), et la fente F₂ (5) et le détecteur d'ions (7) positionnés également aux points focaux et à la même distance de la face d'entrée et de sortie de l'analyseur électrostatique (6).

20 Le détecteur d'ions (7) est une caméra C.C.D. intensifiée constituée d'une galette de microcanaux, suivie d'une fenêtre constituée de fibres optiques recouvertes d'une couche de scintillateur, par exemple du phosphore, permettant de transformer les électrons sortant de la galette de microcanaux en photons. Ces photons sont détectés par une caméra à matrice C.C.D. industrielle standard rectangulaire de 96 lignes et de 4096 éléments. Cette caméra est constituée de pixels de 13 par 13 microns, et est capable de produire jusqu'à 44000 images (spectres de masse) par seconde.

La résolution en masse de ce dispositif est d'après l'équation [5]:

30

$$(\Delta m/m)_1 = [(13/500000) + 10^{-6} + (13/500000)] = (1/19000).$$

avec une induction magnétique maximale que peut atteindre le secteur magnétique (4) B_{max} = 10000 Gauss, et une tension d'accélération de la source d'ions (1) V₀ = 100 Volt, la masse maximale 35 que peut détecter le dispositif est:

$$M_{max} = [4,82 \cdot 10^{-5} (n R_m^2 B^2 / V_0)] = (1,2 \cdot 10^5 n) \text{ UMA (Unité de Masse Atomique)},$$

où n est le nombre de charge de l'ion.

Le procédé selon l'invention est particulièrement destiné aux applications de la spectrométrie de masse en tandem à la protéomique en biologie, qui consiste à déterminer les fonctions des protéines. Essentiellement deux types d'informations sont produites par spectrométrie de masse en protéomique, correspondant chacune à l'utilisation d'un type différent de source d'ions. Le premier type d'information est la mesure avec une grande précision de la masse moléculaire des protéines et des peptides qui les composent, qui permet de déterminer leurs compositions en acides aminés, avec un spectromètre de masse simple. Pour mesurer les masses moléculaires avec des précisions pouvant atteindre de l'ordre du ppm, et des résolutions de l'ordre (1/30000), des sources d'ions du type MALDI, constituée de matrices désorbées par impulsion laser, sont généralement utilisées avec des spectromètres de masse à temps de vol. Le second type d'information obtenu avec des spectromètres de masse à tandem utilisant généralement des sources Electrospray à électro nébulisation décrites précédemment, détermine la séquence des acides aminés de chaque peptide après dissociation. Ce qui permet d'identifier par la collection de peptides qui est produite, des protéines présentes dans un mélange contenant un nombre important de protéines, et permet d'étudier les interactions entre différentes protéines. De nombreux systèmes de spectromètre de masse en tandem sont utilisés, mais la dispersion énergétique de ce type de source d'ions limite généralement la résolution de ces dispositifs à des valeurs de l'ordre de (1/5000). De plus, ces dispositifs ne peuvent produire qu'un seul spectre de dissociation de peptide à la fois, ce qui limite leur sensibilité. Le dispositif utilisant le procédé selon l'invention décrit en exemple précédemment, permet de produire simultanément le spectre de masse primaire et tous les spectres de dissociation de ces peptides avec une résolution identique pour les ions primaires et les fragments, supérieure aux dispositifs de spectrométrie de masse en tandem standards. Ce qui augmente la sensibilité de ce dispositif par rapport aux systèmes de spectrométrie de masse en tandem standards utilisés dans les applications en protéomique.

REVENDICATIONS

1) Procédé de spectrométrie de masse en tandem permettant la détermination de la masse et de la structure de plusieurs molécules différentes dans un échantillon complexe, réalisé à l'aide d'un dispositif comportant dans une enceinte sous vide et dans cet ordre sur la trajectoire des ions: une source d'ions (1); un système de dissociation (2), une fente fine F_1 (3), un secteur magnétique (4), une fente fine F_2 (5), un analyseur électrostatique (6), un détecteur d'ions multicanal (7); caractérisé à la fois par la position du système de dissociation (2) situé immédiatement après la source d'ions (1) et avant le secteur magnétique (4), et par l'utilisation d'un détecteur d'ions (7) à plusieurs canaux capable de détecter simultanément des ions atteignant sa surface de détection à différentes positions.

2) Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que le dispositif mesure en même temps les rapports masse sur charge et les rapports énergie sur charge de plusieurs ions primaires et de plusieurs fragments différents, en produisant simultanément, sans sélection de masse primaire, à la fois le spectre primaire et le spectre de dissociation des différentes molécules présentes dans l'échantillon analysé, en effectuant les opérations suivantes:

Après l'introduction de l'échantillon à analyser, on applique une tension d'accélération V_0 à la source d'ions (1) pour extraire les molécules primaires qui ont été ionisées. Une partie des ions primaires extraits de la source d'ions (1) est fragmentée dans le système de dissociation (2), sans modifier la vitesse des fragments produits. Les fragments conservent donc en moyenne la vitesse des ions primaires dont ils sont issus. Le rapport de l'énergie moyenne sur la charge $[E_0(m)/q(m)]$ des fragments de masse m et de charge $q(m)$, provenant de la dissociation des ions de masse primaire M et de charge $q(M)$ est alors déterminée par l'équation:

$$[1] [E_0(m)/q(m)] = [q(M) V_0 m/M q(m)].$$

25

On fait varier la valeur de l'induction magnétique du secteur magnétique (4) de 0 à B_{max} , où B_{max} est la valeur maximale de l'induction magnétique que peut atteindre le secteur magnétique (4) utilisé, de manière à filtrer tous les ions détectables par le dispositif utilisé. A chaque valeur de l'induction magnétique B sélectionnée, différents ions primaires extraits de la source d'ions (1), et différents fragments produits par le système de dissociation (2), sont filtrés par le secteur magnétique (4) en traversant successivement les fentes F_1 (3) et F_2 (5), avec une trajectoire de rayon R_m , si les valeurs de leurs masses m , de leurs énergies E et de leurs charges q vérifient l'équation:

$$[2] B^2 = [2 m E/q^2 R_m^2].$$

35

Les différents ions filtrés par le secteur magnétique (4) à la valeur B de l'induction magnétique sélectionnée, sont déviés dans l'analyseur électrostatique (6) suivant des trajectoires dont les rayons r_e dépendent de la valeur du rapport énergie sur charge (E/q) de chaque ion, de la tension appliquée V_e sur les plaques de l'analyseur électrostatique (6), et de la distance D qui sépare ces deux plaques.

- 5 La valeur du rapport énergie sur charge (E/q) de chaque ion est déterminée par l'équation:

$$[3] (E/q) = [r_e V_e / 2 D].$$

- Ces ions sont refocalisés sur le détecteur d'ions multicanal (7) où ils sont détectés simultanément à 10 différentes positions, correspondant aux rayons r_e de leurs trajectoires dans l'analyseur électrostatique, et produisent un spectre de masse.

- Si la valeur de la tension V_e appliquée sur l'analyseur électrostatique (6), ne permet pas de mesurer simultanément tous les rayons des trajectoires correspondant aux valeurs du rapport énergie sur charge (E/q) des ions filtrés par le secteur magnétique (4) à la même valeur de B , avec 15 l'analyseur électrostatique (6) et le détecteur d'ions (7) utilisés, on varie séquentiellement la valeur de V_e pour atteindre toutes les valeurs possibles du rapport (E/q). A chaque nouvelle valeur de V_e , on conserve la même valeur de l'induction magnétique B , et on produit le nouveau spectre de masse correspondant aux rayons des trajectoires des ions avec la nouvelle bande de valeurs du rapport énergie sur charge (E/q) sélectionnée par l'analyseur électrostatique (6) à cette valeur de V_e .

- 20 On détermine les valeurs des différents rapports de masse sur charge (m/q) des ions filtrés par le secteur magnétique (4), en utilisant la valeur de l'induction magnétique B sélectionnée et les valeurs des rayons r_e mesurés par le dispositif, avec l'équation suivante obtenue à partir des équations [2] et [3]:

$$25 [4] (m/q) = [D R_m^2 B^2 / V_e r_e].$$

- On juxtapose l'ensemble des spectres de masse obtenu pour les valeurs de l'induction magnétique variant de 0 à B_{max} , en formant ainsi tous les pics de masse primaire et tous les pics de dissociation des différentes molécules détectables par le dispositif utilisé, dont on a déterminé 30 précédemment les différentes valeurs de rapport masse sur charge avec l'équation [4].

- La distribution du nombre d'événements de chaque pic de masse primaire et de chaque pic de dissociation, est déterminée par la dispersion énergétique provenant de la formation des ions primaires dans la source d'ions (1), et de la dispersion énergétique supplémentaire produite par la dissociation pour les fragments. Le nombre d'événements maximum dans chaque pic primaire et de 35 dissociation est obtenu pour les ions de valeur de rapport énergie sur charge égale à l'énergie moyenne sur la charge. On détermine pour chaque pic de masse primaire et pour chaque pic de

dissociation la position du maximum du nombre d'événements, et la valeur du rapport de l'énergie moyenne sur la charge de chaque pic primaire et de dissociation correspondante avec l'équation [3].

La valeur du rapport de l'énergie moyenne sur la charge des ions primaires de rapport masse sur charge $[M/q(M)]$ est $[E_0(M)/q(M)] = V_0$, quelles que soient les valeurs de M et q(M). Les pics de masse primaires sont ceux dont la position du nombre d'événements maximum correspond à la valeur du rapport l'énergie moyenne sur la charge égale à V_0 . On identifie ainsi tous les pics de masse primaire, et on détermine le spectre de masse primaire des molécules présentes dans l'échantillon analysé par le dispositif.

D'après l'équation [1], les valeurs du rapport de l'énergie moyenne sur la charge des pics de dissociation sont toujours inférieures à celles des pics primaires. On détermine avec l'équation [1] de quelles molécules primaires sont issus les fragments de chaque pic de dissociation, en utilisant la valeur du rapport masse sur charge $[M/q(M)]$ de ces molécules primaires, la valeur du rapport $[m/q(m)]$ et la valeur du rapport de l'énergie moyenne sur la charge $[E_0(m)/q(m)]$ de ce pic de dissociation, qui ont été déterminées précédemment. On identifie ainsi tous les pics de dissociation, et on détermine le spectre de dissociation correspondant à chaque valeur de rapport masse sur charge des différentes molécules primaires présentes dans l'échantillon analysé par le dispositif.

3) Procédé selon la revendication 1 réalisé à l'aide d'un dispositif placé dans une enceinte à vide, constitué pour l'essentiel et dans cet ordre sur la trajectoire des ions: d'une source d'ions (1), d'un système de dissociation (2), d'une fente fine F_1 (3), d'un analyseur électrostatique (6), d'une fente fine F_2 (5), d'un secteur magnétique (4), et d'un détecteur d'ions multicanal (7); caractérisé par la position de l'analyseur électrostatique (6), située avant le secteur magnétique (4) et après le système de dissociation (2).

4) Procédé selon la revendication 3 caractérisé en ce que le dispositif mesure en même temps les rapports masse sur charge et les rapports énergie sur charge de plusieurs ions primaires et de plusieurs fragments différents, en produisant simultanément, sans sélection de masse primaire, à la fois le spectre primaire et le spectre de dissociation des différentes molécules présentes dans l'échantillon analysé, en effectuant les opérations suivantes:

Après l'introduction de l'échantillon à analyser, on applique une tension d'accélération V_0 à la source d'ions (1) pour extraire les molécules primaires qui ont été ionisées. Une partie des ions primaires extraits de la source d'ions (1) est fragmentée dans le système de dissociation (2), sans modifier la vitesse des fragments produits. Les fragments conservent donc en moyenne la vitesse des ions primaires dont ils sont issus. Le rapport de l'énergie moyenne sur la charge des fragments de masse m et de charge q(m), provenant de la dissociation des ions de masse primaire M et de charge q(M) est alors déterminée par l'équation [1].

On fait varier la valeur de la tension v_e appliquée sur l'analyseur électrostatique (6) de 0 à $(v_e)_{max}$, où $(v_e)_{max}$ est la tension maximale appliquée sur l'analyseur électrostatique, pour filtrer

tous les ions primaires extraits de la source d'ions et tous les fragments produits par le système de dissociation (2). A chaque valeur de la tension v_e appliquée sur les plaques de l'analyseur électrostatique (6), séparées de la distance D, différents ions primaires extraits de la source d'ions (1), et différents fragments produits par le système de dissociation (2), sont filtrés par l'analyseur électrostatique (6) en traversant successivement les fentes F_1 (3) et F_2 (5), avec une trajectoire de rayon R_e , si la valeur du rapport énergie sur charge (E/q) de ces ions vérifient l'équation:

$$[7] (E/q) = [v_e R_e / 2 D].$$

- 10 Les différents ions filtrés par l'analyseur électrostatique (6) à chaque valeur de la tension v_e sélectionnée, de même valeur du rapport énergie sur charge (E/q), sont déviés dans le secteur magnétique (4) suivant des trajectoires dont les différents rayons r_m dépendent de la valeur du rapport énergie sur charge (E/q) sélectionnée, de la valeur de l'induction magnétique fixé à B_m , et de leurs différentes valeurs de rapport masse sur charge (m/q). Les valeurs des rayons r_m des
15 trajectoires des ions dans le secteur magnétique (4) sont déterminés par l'équation:

$$[8] r_m^2 = [2 m E/q^2 B_m^2].$$

- Les ions filtrés par l'analyseur électrostatique (6) à la valeur de la tension v_e sélectionnée, puis
20 déviés dans le secteur magnétique (4) sont finalement refocalisés sur le détecteur d'ions multicanal (7) où ils produisent un spectre de masse.

On détermine les valeurs des différents rapports de masse sur charge (m/q) des ions filtrés par l'analyseur électrostatique (6), en utilisant la valeur de la tension v_e sélectionnée et les valeurs des différents rayon r_m mesurées par le dispositif, avec l'équation suivante obtenue à partir des
25 équations [7] et [8]:

$$[9] (m/q) = [D B_m^2 r_m^2 / v_e R_e].$$

Si la valeur de l'induction magnétique B_m appliquée sur le secteur magnétique (4), ne
30 permet pas de mesurer simultanément tous les rayons des trajectoires correspondant aux valeurs de rapport masse sur charge des ions primaires et des fragments, filtrés par l'analyseur électrostatique (6) pour les valeurs de la tension v_e comprises entre 0 et $(v_e)_{max}$, avec le secteur magnétique (4) et le détecteur d'ions (7) utilisés, on varie séquentiellement la valeur de l'induction magnétique B_m pour atteindre toutes les valeurs possibles du rapport masse sur charge de ces ions. A chaque
35 nouvelle valeur de B_m , on varie à nouveau la valeur de la tension v_e de 0 à $(v_e)_{max}$, en produisant un spectre de masse à chaque valeur de la tension v_e sélectionnée. On peut varier séquentiellement

la valeur de B_m entre 0 et la valeur maximale de l'induction magnétique B_{max} que peut atteindre le secteur magnétique (4).

On juxtapose l'ensemble des spectres de masse obtenu pour les valeurs de la tension v_e variant de 0 à $(v_e)_{max}$, en formant ainsi tous les pics de masse primaire et tous les pics de dissociation des différentes molécules détectables par le dispositif utilisé, dont on a déterminé précédemment les différentes valeurs de rapport masse sur charge avec l'équation [9].

La distribution du nombre d'événements de chaque pic de masse primaire et de chaque pic de dissociation, est déterminée par la dispersion énergétique provenant de la formation des ions primaires dans la source d'ions (1), et de la dispersion énergétique supplémentaire produite par la dissociation pour les fragments. Le nombre d'événements maximum dans chaque pic primaire et de dissociation est obtenu pour les ions de valeur de rapport énergie sur charge égale à l'énergie moyenne sur la charge. On détermine pour chaque pic de masse primaire et pour chaque pic de dissociation la position du maximum du nombre d'événements, et la valeur du rapport de l'énergie moyenne sur la charge de chaque pic primaire et de dissociation correspondante avec l'équation [7].

La valeur du rapport de l'énergie moyenne sur la charge des ions primaires de rapport masse sur charge $[M/q(M)]$ est $[E_0(M)/q(M)] = V_0$, quelles que soient les valeurs de M et $q(M)$. Les pics de masse primaires sont ceux dont la position du nombre d'événements maximum correspond à la valeur du rapport l'énergie moyenne sur la charge égale à V_0 . On identifie ainsi tous les pics de masse primaire, et on détermine le spectre de masse primaire des molécules présentes dans l'échantillon analysé par le dispositif.

D'après l'équation [1], les valeurs du rapport de l'énergie moyenne sur la charge des pics de dissociation sont toujours inférieures à celles des pics primaires. On détermine avec l'équation [1] de quelles molécules primaires sont issus les fragments de chaque pic de dissociation, en utilisant la valeur du rapport masse sur charge $[M/q(M)]$ de ces molécules primaires, la valeur du rapport $[m/q(m)]$ et la valeur du rapport de l'énergie moyenne sur la charge $[E_0(m)/q(m)]$ de ce pic de dissociation, qui ont été déterminées précédemment. On identifie ainsi tous les pics de dissociation, et on détermine le spectre de dissociation correspondant à chaque valeur de rapport masse sur charge des différentes molécules primaires présentes dans l'échantillon analysé par le dispositif.

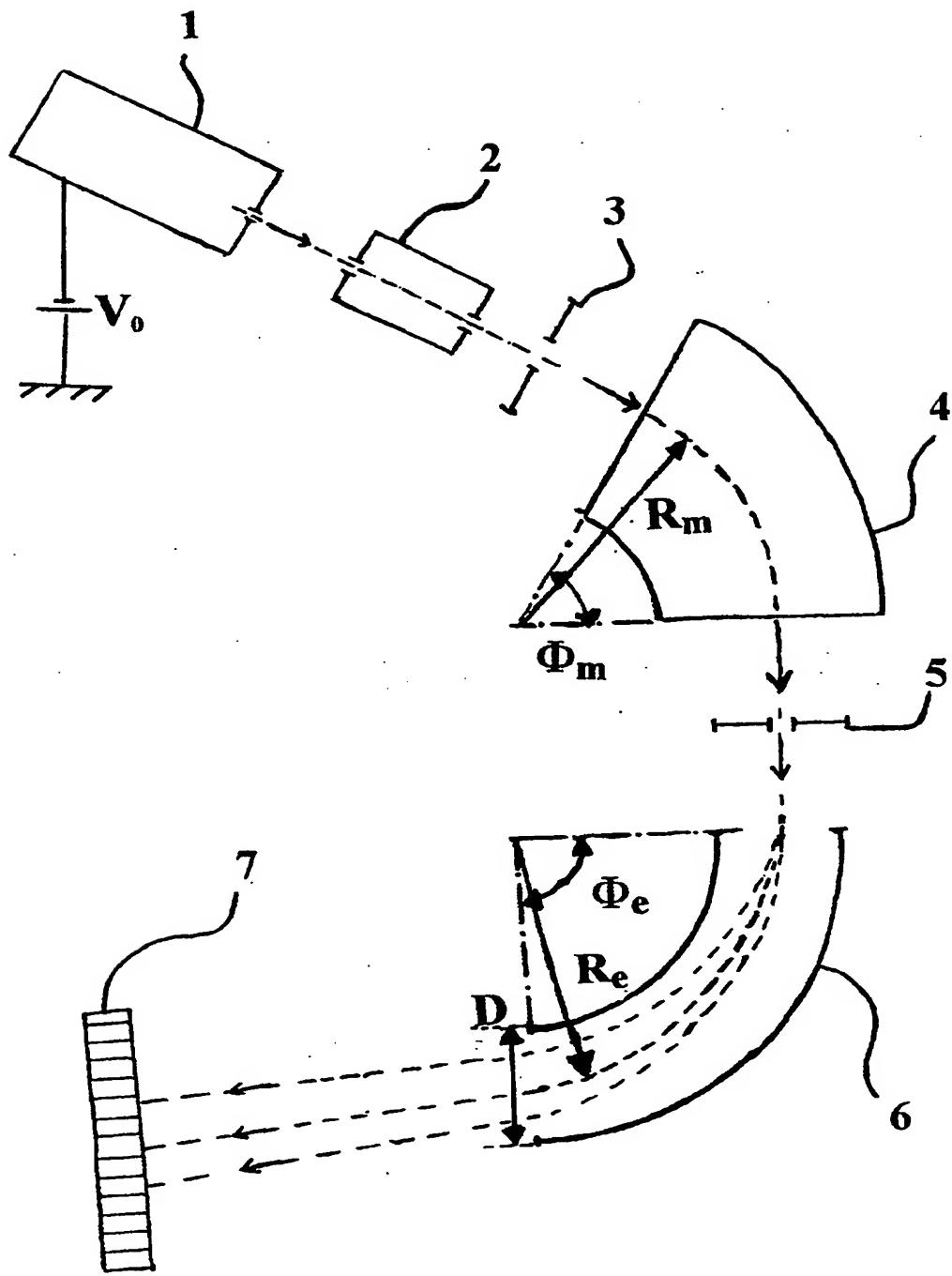


FIG. 1

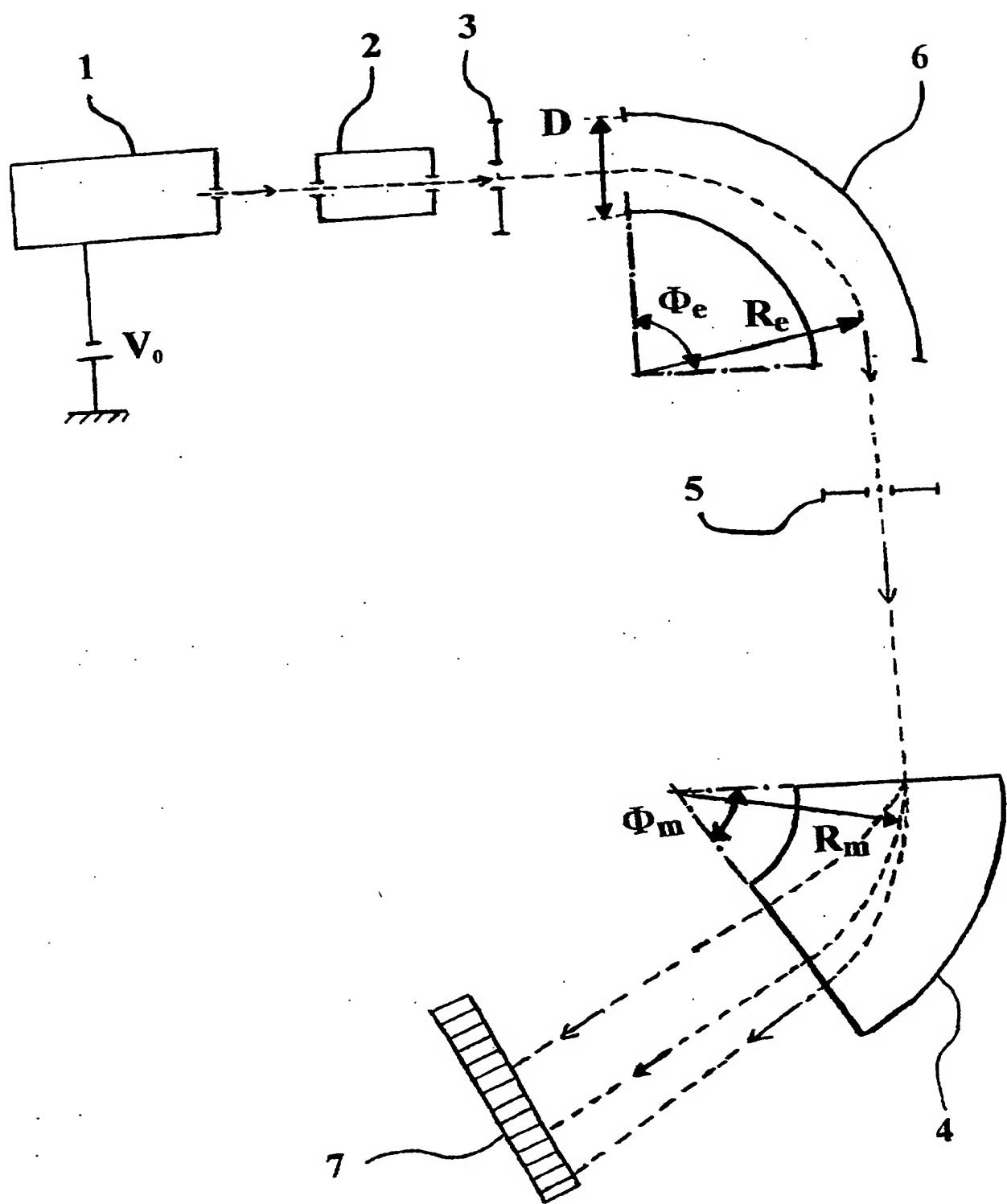


FIG. 2

3/4

2829287

$$Y = (m/q)$$

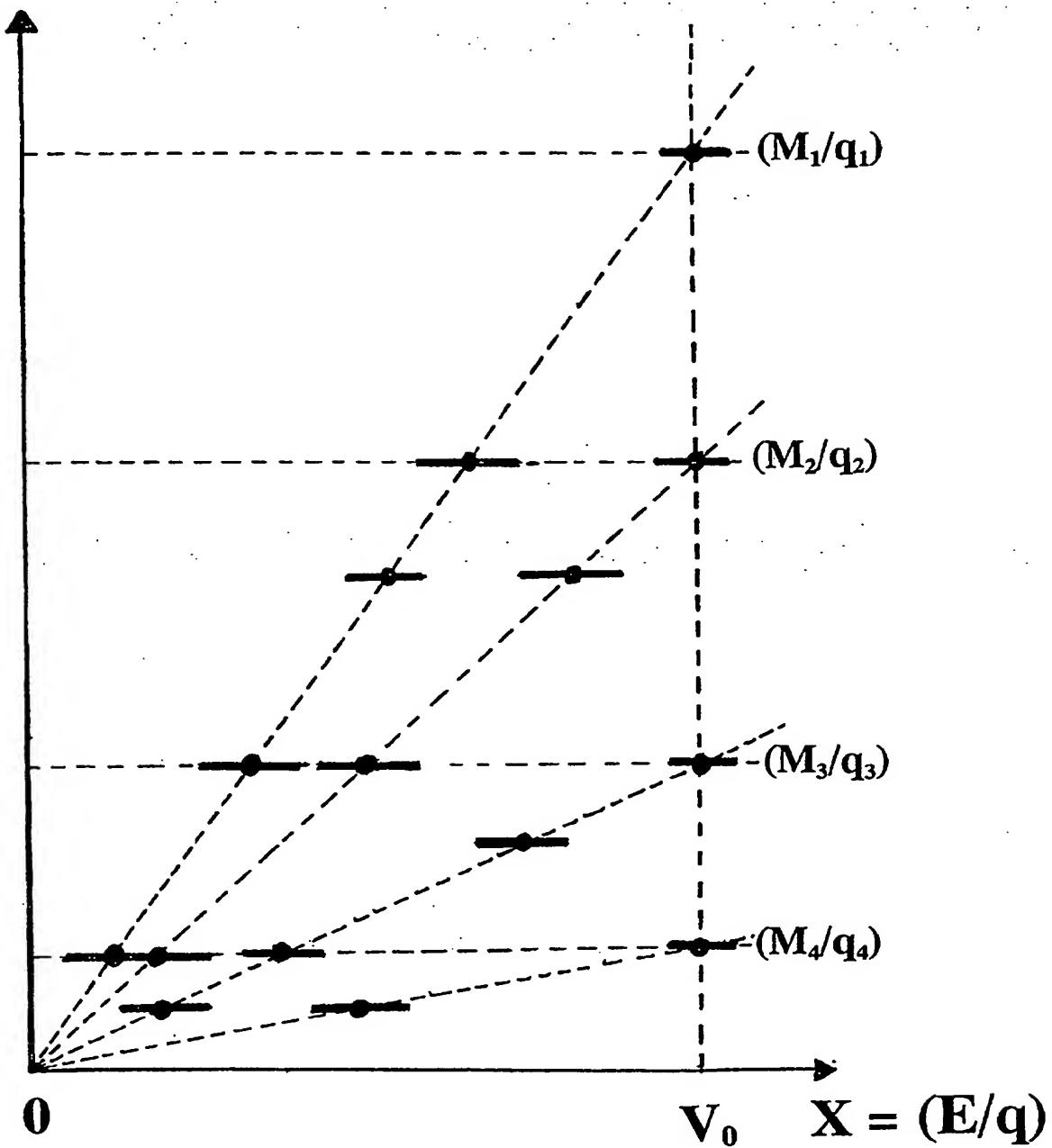


FIG. 3

4/4

2829287

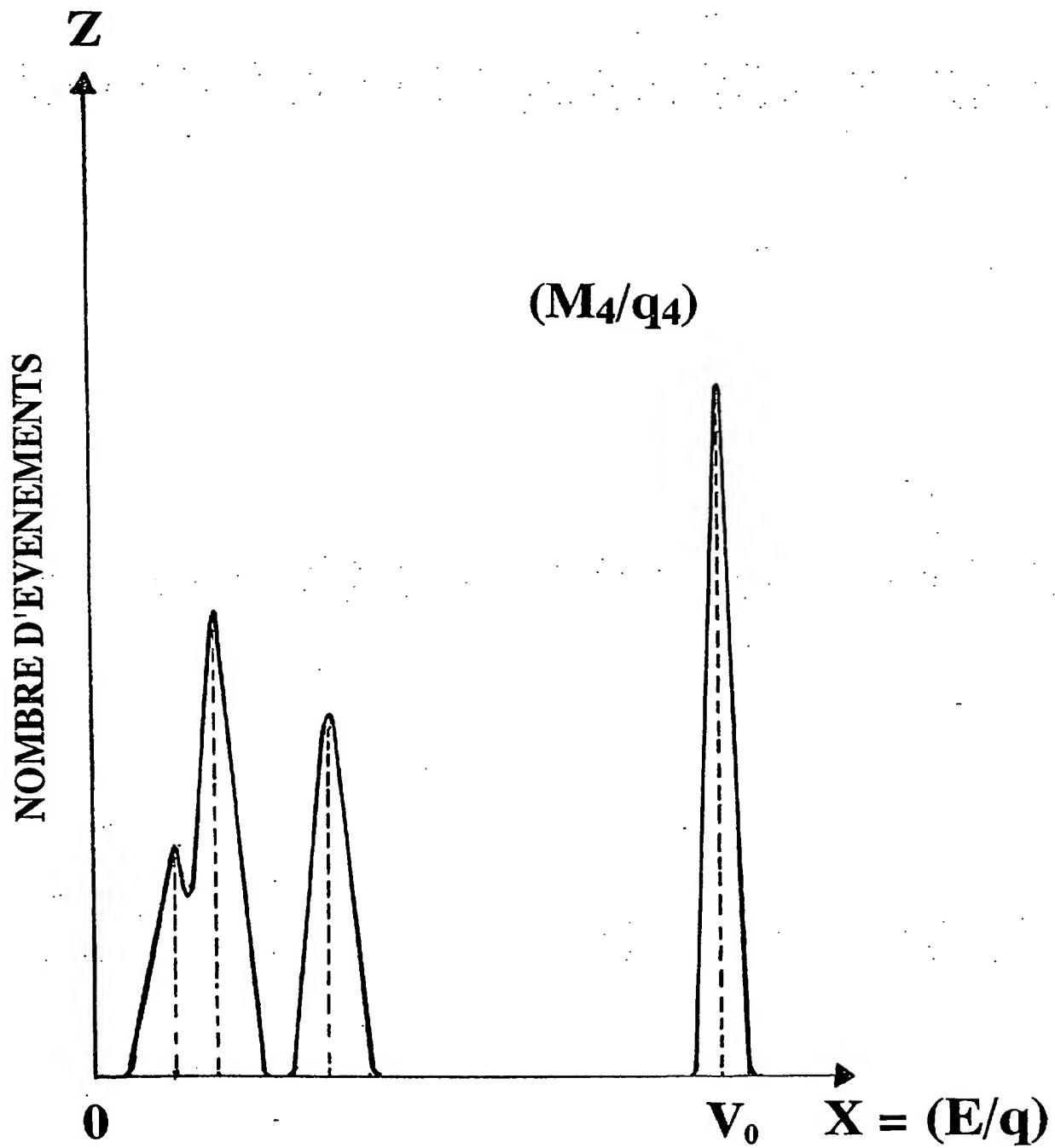


FIG. 4

2829287

RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE

 établi sur la base des dernières revendications
 déposées avant le commencement de la recherche
N° d'enregistrement
nationalFA 613529
FR 0111414

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI		
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes				
X	US 4 472 631 A (ENKE CHRISTIE G ET AL) 18 septembre 1984 (1984-09-18)	1	H01J49/32 G01N27/62		
A	* colonne 28 - colonne 29; figures 1,8 *	2,3			

DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.Cl.7)					
H01J					
1					
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur			
14 août 2002		Hulne, S			
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS					
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire					
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant					

2829287

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0111414 FA 613529**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **14-08-2002**.
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française.

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 4472631	A 18-09-1984	AU 565346 B2 AU 1773883 A CA 1198834 A1 DK 49584 A EP 0126729 A1 IT 1163455 B WO 8304187 A1	10-09-1987 16-12-1983 31-12-1985 03-02-1984 05-12-1984 08-04-1987 08-12-1983

EPO FORM P0465

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82

This Page Blank (uspto)